

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK**

ANTINUTRIJENTI I BILJNI OTROVI

ANTINUTRIENTS AND PLANT TOXINS

SEMINARSKI RAD

Lovro Trgovec-Greif

**Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)**

Mentor: izv.prof.dr.sc. Antun Alegro

Zagreb, 2016

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Inhibitori enzima	2
3. Fitinska kiselina.....	4
4. Lektini	6
5. Glikoalkaloidi	8
6. Galaktozidi saharoze.....	10
7. Glukozinolati.....	12
8. Cijanogeni glikozidi	13
9. Saponini	15
10. Fitoestrogeni	17
11 Literatura	18
12. Sažetak.....	22
13. Summary	23

1. Uvod

Životinje i ljudi konzumiraju hranu zbog nutrijenata koji su im potrebni za život. Mnogim organizmima uključujući i ljude osnovu prehrane čini hrana biljnog porijekla. Međutim, iako su biljke bogate hranjivim tvarima, također sadrže niz tvari koje mogu djelovati nepovoljno na organizam. Mehanizam nepovoljnog djelovanja može biti direktan, tj. tvar je otrovna za organizam sama po sebi ili indirektan, tako da se otežava apsorpcija nekog od nutrijenata. One koje interferiraju s apsorpcijom nutrijenata zovu se antinutrijenti. Pošto su biljke nepokretni organizmi ciljano stvaraju spojeve štetne za herbivore kako bi se zaštitile, ali je moguće da su takvi spojevi potrebi biljci i iz drugih razloga osim obrane, a slučajno imaju negativan učinak na životinje koje ih konzumiraju. Budući da doza čini otrov, ovisno o količini, neki antinutrijenti mogu imati i pozitivna ili ljekovita djelovanja dok se ne dostigne prag toksičnosti (Shahidi, 1997). Također, događa se i da neka tvar postane štetna tek nakon niza metaboličkih promjena u organizmu koji ju je unio (Shahidi, 1997). Mahunarke su poznate po velikoj količini antinutrijenata i otrovnih tvari, a slijede ih žitarice i neke začinske biljke. Najpoznatije skupine spojeva koji djeluju kao antinutrijenti su inhibitori proteaza i amilaza, lektini, saponini, tanini, alkaloidi, fitinska kiselina i sl. Zbog mnoštva nepoželjnih tvari tijekom vremena razvili su se razni tradicionalni načini pripremanja takvih namirnica kao što su močenje, ispiranje, dugotrajno kuhanje, fermentacija i dr. s ciljem da uklone ili inaktiviraju antinutrijente i otrove, iako izumitelji tih metoda nisu bili svjesni toga. Razlog zbog kojeg su se tradicionalni načini pripreme hrane održali vjerojatno leži u tome da se nakon obrade okus hrane poboljšao ili su izostale neke nuspojave nakon konzumacije kao slabost, nadutost i sl. Žrtve antinutrijenata uglavnom su ioni metala koji bivaju vezani i neapsorbirani, probavni enzimi koji postanu inhibirani ili inaktivirani i ostali makro- i mikronutrijenti koji se ne mogu apsorbirati. Poznavanje kemijskih svojstava antinutrijenata, mehanizma djelovanja i njihovih izvora važno je zbog smanjivanja njihove količine u hrani kako bi ona bila povoljnija za ljudsku konzumaciju. Ovaj pregled će prikazati najpoznatije i najrasprostranjenije antinutrijente i otrove, njihova svojstva, mehanizam djelovanja, izvore i poznate načine uklanjanja.

2. Inhibitori enzima

Inhibitori enzima su najočitija skupina antinutrijenata. To su proteini biljnog porijekla koji inhibiraju probavne enzime, većinom amilaze i proteaze. Sirove žitarice i mahunarke su njima bogate. Mogu imati i endogenu fiziološku ulogu u biljci (Whitaker, 1997). Inhibitorni učinak ostvaruju tako da se vežu u aktivno mjesto enzima, no zbog vrlo čvrstog vezanja ili konformacijskih ograničenja ne dolazi do hidrolize (Whitaker, 1997). Kako jedna molekula inhibitora može imati više veznih mjesta za enzime, broj inhibiranih enzima može biti veći od broja inhibitora. Bowman-Birk-ovi inhibitori vežu istovremeno tripsin i kimotripsin (Whitaker and Sgarbieri, 1981). Proteini koji imaju inhibitorno djelovanje na α -amilazu su otkriveni prvo u pšenici (Chrzaszcz i Janicki, 1934), a zatim u uobičajenom grahu (*Phaseolus vulgaris*) (Bowman, 1945). Inhibitori α -amilaze pronađeni su i u kukuruzu, ječmu, sirku, prosu, raži, kikirikiju, žiru, korijenu tara i mangu (Whitaker, 1997).

Inhibitori proteaza su prvo pronađeni u soji, a pročistio ih je Kunitz (Kunitz, 1945). Najpoznatiji i najproučavaniji su inhibitori tripsina dok su inhibitori ostalih proteaza slabije istraženi.

Klasifikacija se temelji na klasi proteaza koje su inhibirane npr. serinske proteaze, cisteinske proteaze itd. U novije vrijeme se klasifikacija vrši i na temelju primarne strukture (Richardson, 1991) i lokaciji disulfidnih mostova (Tablica 1) (Laskowski i Kato, 1980).

Tablica 1: obitelji inhibitora proteaza (Whitaker, 1997)

Table I. FAMILIES OF PLANT PROTEASE INHIBITORS

Serine Protease Inhibitors (Serpins)

1. Bowman-Birk (trypsin/chymotrypsin)^a
2. Kunitz (trypsin; others)^a
3. Potato I (chymotrypsin; trypsin)^a
4. Potato II (trypsin; chymotrypsin)^a
5. Cucurbit (trypsin)
6. Cereal superfamily (amylase, trypsin)^b
7. Ragi I-2 family (amylase, protease)^b
8. Maize 22 kDa/thaumatin/PR (amylase, trypsin)^b

Cysteine Protease Inhibitors (Cystatins and Stefins)

1. Cystatin super family
2. Cystatin family
3. Stefin family
4. Fitocystatin family

Metallo Protease Inhibitors

1. Carboxypeptidase
-

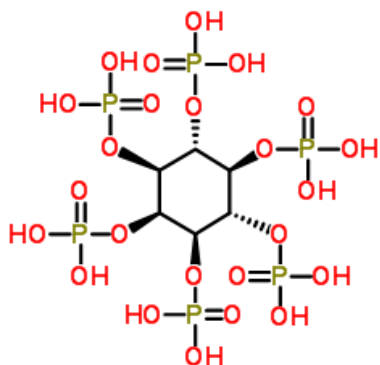
^aSecond enzyme listed binds less tightly.

^bDouble headed inhibitor.

Pošto su inhibitori proteaza redom proteini, mogu se inaktivirati povišenom temperaturom. Kako usporavaju probavu proteina, gušterača izlučuje dodatne količine probavnih enzima što može dovesti do hipertrofije gušterače i inhibicije rasta. Proteaze su također bogate aminokiselinama koje sadrže sumpor pa sinteza dodatnih količina proteaza iscrpljuje zalihe takvih aminokiselina.

Inhibitori amilaza nisu toliko bitni za ljudsko zdravlje jer osim što su nestabilni na povišenim temperaturama, nestabilni su i pri uvjetima koji vladaju u probavnom sustavu. Pri vezanju na aktivno mjesto prvo tvore labavi kompleks koji tada uslijed konformacijskih promjena sporo prelazi u čvrsti kompleks (Wilcox i Whitaker, 1984). Kompleksi su slabije topivi od pojedinačnih proteina. Postoji i nekoliko proteina iz žitarica koji uz amilazu vežu i proteazu.

3. Fitinska kiselina



Slika 1: Fitinska kiselina,
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.16735966.html>

Fitinska kiselina je organski spoj službenog imena myo-inozitol 1,2,3,4,5,6-heksakisfosfat (Slika 1). Zbog mnogo fosfatnih skupina ima negativan naboj te se često veže s pozitivno nabijenim česticama kao što su kationi cinkai kalcija, a osim metala meta su joj i pozitivno nabijene regije proteina. U hrani se nalazi u rasponu udjela od 0,4 do 6,4% , uglavnom u žitaricama i mahunarkama (Reddy i Sathe, 1982; Shamsuddin, 1995). Biljci služi kao primarna pričuva fosfora, a lokalizirana je u klici kod kukuruza i aleuronskom sloju plodova trava, kao što su na primjer žitarice pšenica ili riža (Reddy i Sathe, 1982) te se zbog toga u tim vrstama lako uklanja

tijekom mljevenja (Rickard i Thompson, 1997), ali kod mahunarki, orašastih sjemenki i uljarica je čvrsto asocirana sa proteinima (Reddy i Sathe, 1982) pa se pri uklanjanju koncentrira u proteinskoj frakciji (Rickard i Thompson, 1997). Biljke razgrađuju fitinsku kiselinu kako bi dobile fosfor pomoću enzima zvanih fitaze. Oni se tamo primarno nalaze u aleuronskom sloju, a inaktivni su u suhim sjemenkama zbog nedostatka vode za hidrolitičku reakciju (Oatway *i sur*, 2001). Zanimljivo je da fitaze nisu prisutne samo u biljkama nego ih ima i u drugim organizmima, npr. kvascima. Kruh pravljen s kvascem ima manje fitinske kiseline nego što bi se očekivalo, ali potrebno je paziti na kiselost tijesta, jer je optimalan pH za funkcioniranje fitaza 5,1, a pH tijesta se normalno kreće između 5,5 i 6,0 (Türk *i sur*, 1996).

Prehrana bogata fitinskom kiselinom može dovesti do raznih problema, pogotovo ako je unos nekih drugih nutrijenata nedostatan. Premalo cinka u kombinaciji s puno fitinske kiseline može dovesti do njegova deficita, dok su fosfati koje sadrži fitinska kiselina neiskoristivi za čovjeka (Fredlund *i sur*, 1997). Razni postupci prerade hrane mogu imati različite učinke na količinu fitinske kiseline i dostupnost ostalih nutrijenata. Ekstruzijsko kuhanje škorba, pšeničnih mekinja i glutena dovodi do smanjene dostupnosti cinka, prvenstveno zbog inaktivacije fitaza, dok močenje, fermentiranje, klijanje i ozračivanje pojačava razgradnju fitinske kiseline (Kivistö *i sur*, 1986; Sandberg, 1991).

Zbog nekih svojih svojstava se fitinska kiselina namjerno dodaje hrani. Pokazano je da inhibira lipidnu peroksidaciju u goveđem mišiću, neovisno o tome je li peroksidacija inducirana željezom ili nije. Zaključeno je da bi dodatak fitinske kiseline hrani bogatoj lipidima spriječio oksidativno kvarenje (Lee i Hendricks, 1995). U SAD-u se koristi kao aditiv u mesu, ribljim paštetama, ribljim konzervama, voću, povrću, tjestenini, sokovima, kruhu i alkoholnim pićima kako bi se spriječila diskoloracija i produljio rok trajanja (Hix *i sur*, 1997).

Iako prva asocijacija na fitinsku kiselinu ima negativne konotacije, postoji mogućnost da ima i određene povoljne učinke na organizam. Pokazano je da ima antioksidativna svojstva zbog mogućnosti vezanja dvovalentnih kationa. Kada je životinjama dana u niskoj koncentraciji u vodi za piće, primijećena je manja učestalost nastanka tumora i njihova smanjena veličina. Također je uočeno da smanjuje brzinu rasta stanica i potiče reverziju tumorskih stanica u stanice s normalnim fenotipom kod nekih tumorskih linija (Shamsuddin, 1995). Upalne bolesti probavila također se mogu suprimirati fitinskom kiselinom (Oatway *i sur*, 2001). Još jedno od korisnih svojstava fitinske kiseline jest da inhibira nastajanje karijesa i zbog toga se dodaje u neke paste za zube i ostale proizvode za održavanje higijene usne šupljine (McClure, 1963).

4. Lektini

Iduća skupina antinutrijenata su lektini. To su proteinske molekule koje se specifično vežu s ugljikohidratima, bilo slobodnim ili onima koji su dio glikoproteina. Neki imaju sposobnost aglutinacije eritrocita pa se nazivaju i hemaglutinini, a prisutni su u mnogim biljnim vrstama koje se rutinski koriste u ljudskoj prehrani kao što su na primjer grah, soja, leća i grašak (Tablica 2) (Liener, 1997). Sposobnost aglutinacije proizlazi iz činjenice da su antigeni na površini eritrocita ugljikohidrati pa tako postoji specifičnost prema krvnim grupama (Liener, 1997).

Tablica 2: Neke mahunarke i njihovi lektini, izvor: (Liener, 1997)

Botanical name	Common name	Molecular weight	Number of subunits	Sugar specificity ^b
<i>Arachis hypogaeae</i>	Peanut	110,000	4	GalNAc
<i>Canavalia ensiformis</i>	Jack bean	105,000	4	Man
<i>Dolichos biflorus</i>	Horse gram	110,000	4	GalNAc
<i>Glycine max</i>	Soybean	120,000	4	GalNAc
<i>Lathyrus odoratus</i>	Sweet pea	52,000	4	Man
<i>Lathyrus sativus</i>	Chickling vetch	49,000	4	Man
<i>Lens esculenta</i>	Lentil	46,000	4	Man
<i>Phaseolus lunatus</i>	Lima bean	60,000	2	GalNAc
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Kidney bean	126,000	4	GalNAc
<i>Pisum sativum</i>	Pea	49,000	4	Man
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	Winged bean	58,000	2	GalNAc
<i>Vicia faba</i>	Fava bean	52,500	4	Man

^aBased on information taken from Goldstein and Poretz (2).

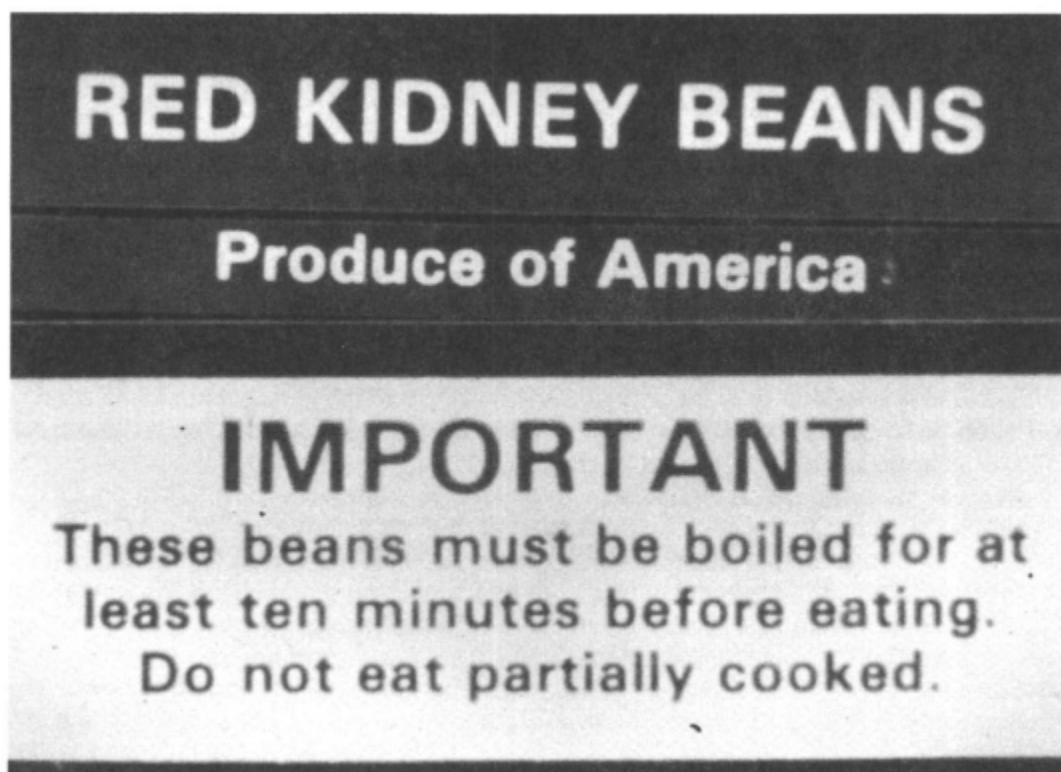
^bGalNAc, N-acetylgalactosamine; Man, mannose.

Samo vezanje na antigen nije dovoljno da uzrokuje aglutinaciju, ali pošto lektini sadrže dvije ili četiri podjedinice od kojih svaka ima vezno mjesto za šećer, jedna molekula može vezati nekoliko antigena koji mogu biti na različitim stanicama (Liener, 1997).

Najistraženiji lektin je konkanavalin A izoliran iz vrste graha *Canavalia ensiformis* (Liener, 1997). Veže se prvenstveno na manozu, a u manjoj mjeri i na glukozu. Prvi lektini su otkriveni pri istraživanjima na soji jer je primijećeno da je nutritivna vrijednost soje nakon kuhanja i dodavanja početne količine inhibitora tripsina veća nego u nekuhane soje (Liener i Hill, 1953). Sojini lektini usporavaju rast životinja zbog ometanja apsorpcije hranjivih tvari, ali nisu otrovni kao što su lektini iz običnog graha (*Phaseolus vulgaris*) zbog kojih su

životinje počele gubiti masu dok na kraju nisu uginule (Honavar i *sur* 1962). Toksičnosti proizlazi iz vezanja lektina na receptore na površini epitelnih stanica crijeva što uzrokuje uništenje mikrovila (Liener, 1997). Još jedan negativan efekt lektina je povezan s bakterijskom kolonizacijom. Primijećeno je da su se koliformne bakterije razmnožile u tankom crijevu štakora i pilića ako im je prehrana sadržavala sirovi grah ili pročišćene lektine (Liener, 1997). Objašnjenje leži u tome da lektini vjerojatno “zalijepe” bakterije na površinu crijeva istim mehanizmom kojim aglutiniraju eritrocite pa bakterije ili njihovi toksini mogu ući u krvotok (Jayne-Williams, 1973).

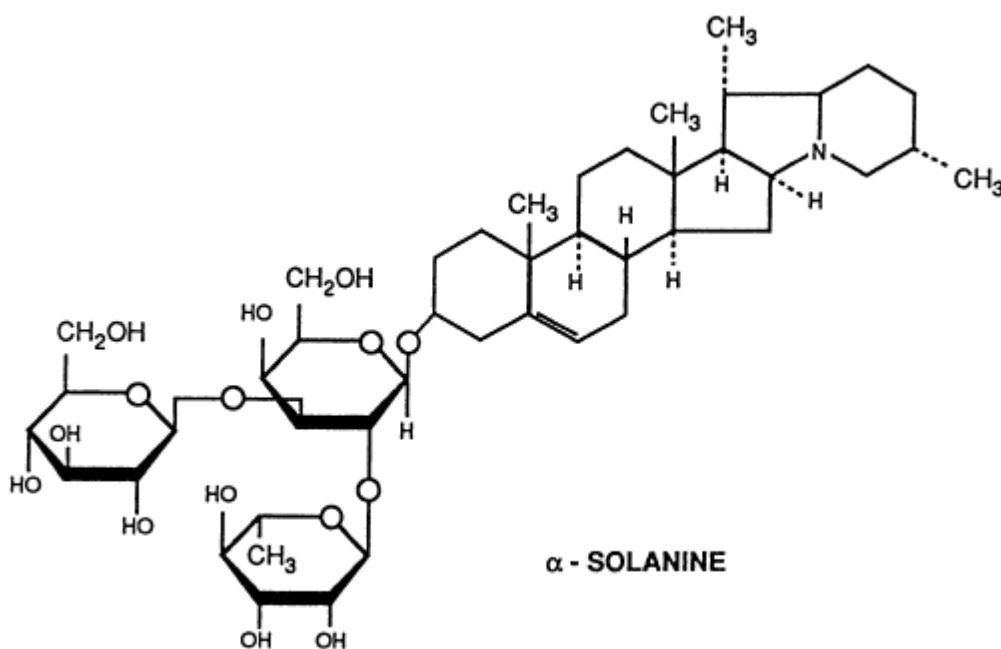
Pošto su lektini proteini, inaktiviraju se termičkom obradom pa namirnice koje ih sadrže na predstavljaju rizik za zdravlje ako su adekvatno pripremljene. Potreban je opez kod kuhanja takvih namirnica u uvjetima sniženog vrelišta vode, na primjer na većim nadmorskih visinama ili u loncu za sporo kuhanje (Slika 2) (Liener, 1997).



Slika 2: Upozorenje na konzervi graha u engleskoj (Liener, 1997)

5. Glikoalkaloidi

Glikoalkaloidi su skupina sekundarnih metabolita koje karakterizira steroidima sličan alkaloidni kostur na koji je vezano jedan do četiri molekule šećera preko glikozidne veze (Slika 3). Nalaze se npr. u cijeloj biljci krumpira i otrovni su (Jadhav i Salunkhe, 1975). Gornja granica koncentracije glikoalkaloida za prihvatljivost korištenja u prehrani je 20mg/100g svježeg gomolja, a termičkom obradom se ne inaktiviraju. (Jadhav *i sur*, 1997)



(Jadhav *i sur*, 1997).

Slika 3: solanin, jedan od krumpirovih glikoalkaloida, izvor: (Jadhav *i sur*, 1997)

Iako se mogu naći i u ostalim biljkama iz porodice koje se koriste u prehrani (rajčica, patlidan), sadržaj glikoalkaloida u zrelih plodovima je vrlo mali i jedini zabilježeni slučajevi trovanja su povezani s konzumacijom krumpira (Maga, 1980). Najveće količine glikoalkaloida su u nezrelim plodovima, cvjetovima, klicama i listovima, a najmanje u stabljici, korijenu i gomolju (Plhak i Sporns, 1997). Komercijalni kultivari obično sadrže 2 do 15mg/100g svježeg neoguljenog gomolja (Slanina, 1990). Genetičke varijacije utječu na sadržaj glikoalkaloida te su tijekom domestifikacije selektirani krumpiri s njihovom manjom količinom budući da su manje otrovni i gorki (Alonso, 1990). Pošto su glikoalkaloidi otrovni i za druge životinje, što uključuje člankonošce i oblice, štite biljku od nametnika što joj

omogućuje bolji rast. Stoga se ponekad provodi križanje sa divljim sortama krumpira kako bi se uzgojio novi otporniji kultivar, no pritom je potrebno paziti da razina glikoalkaloida ne prijeđe sigurnosnu granicu (Plhak i Sporns, 1997).

Fiziološki stres nakon berbe također može utjecati na sadržaj glikoalkaloida. Ekstremne temperature skladištenja, izloženost svjetlu i mehaničkim oštećenjima te početak klijanja stimuliraju biosintezu glikoalkaloida (Plhak i Sporns, 1997). Pri industrijskoj obradi krumpira dobar postupak je guljenje kore jer su u tom dijelu glikoalkaloidi najkoncentriraniji, ali zbog mehaničkih oštećenja se može inducirati sinteza novih ukoliko se ne počne odmah s daljnjom obradom (Plhak i Sporns, 1997).

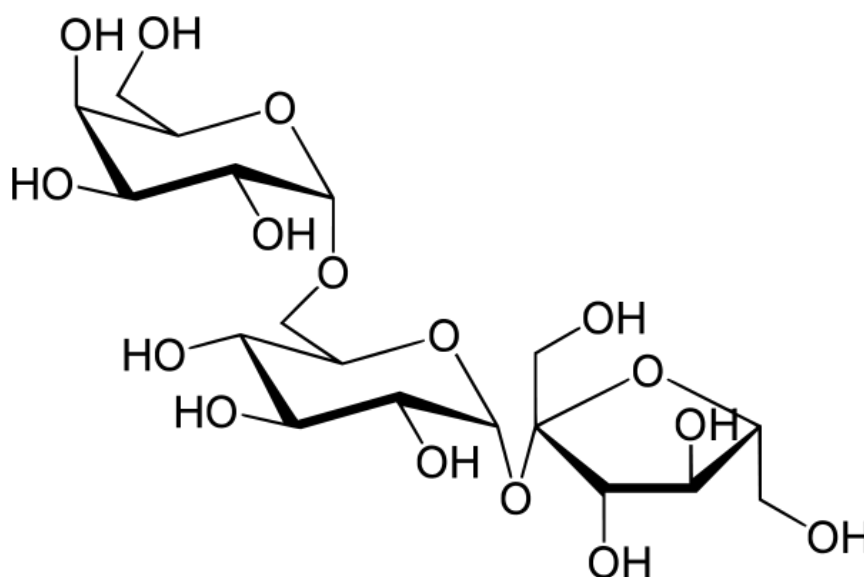
Broj zabilježenih trovanja glikoalkaloidima iz krumpira je puno manji od stvarnog broja iz razloga što ga je nemoguće dokazati ako nije preostalo sumnjivog obroka ili gomolja iz iste skupine, a puno slučajeva je zabilježeno kao gastroenteritis (Plhak and Sporns, 1997). Simptomi trovanja uključuju povraćanje, proljev, bol u trbuhu, omamljenost, zbunjenost, slabost, depresiju i ponekad nesvjesticu (Plhak i Sporns, 1997). Procijenjena letalna doza je 2 do 6mg po kilogramu tjelesne mase (Morris i Lee, 1984). Zanimljivo je kako se glikoalkaloidi u krvotoku mogu naći kod svakoga tko je konzumirao krumpire (Harvey i *sur*, 1985). Vrijeme poluraspada solanina u organizmu jest 11 sati (Hellenäs i *sur*, 1992).

Dva su mehanizma toksičnosti glikoalkaloida: inhibicija kolinesteraza i destabilizacija membrana (više u poglavlju o saponinima). Inhibicija kolinesteraza je vjerojatno odgovorna za neurološke učinke (Plhak i Sporns, 1997).

Smatra se da su glikoalkaloidi jedni od najozbiljnijih otrova u ljudskoj prehrani (Richard, 1992).

6. Galaktozidi saharoze

α -galaktozidi saharoze (Slika 4) su skupina antinutrijenata s kojima se ljudi često nalaze u prehrani, a čije posljedice su vidljive u vrlo kratkom roku. Pošto ljudima nedostaju enzimi s α -galaktidaznom aktivnošću ti oligosaharidi ostaju neprobavljeni, a razgrađuju ih bakteriju koje kao produkte daju vodik, metan i ugljični dioksid što dovodi do povećane flatulencije (Price, 1988).



Slika 4: rafinoza, trisaharid nastao povezivanjem saharoze i galaktoze,
(<https://en.wikipedia.org/wiki/Raffinose#/media/File:Raffinose.svg>)

Ugljikohidrati su glavni izvor energije za većinu crijevnih bakterija (Miller i Wolin, 1979), a zapadnjačka prehrana osigurava dnevno barem 20g ugljikohidrata koji će biti supstrati za bakterijsku fermentaciju (Cummings, 1981). Fermentacija utječe na apsorpciju vode, raspored defekacije, izlučivanje otrovnih tvari i metabolizam dušika i sterola (Naczki *i sur*, 1997). In vitro je pokazano je da se proizvodnja plinova može smanjiti i do 85% ako se bakterijama *Clostridium perfringens*, koje su inače normalni stanovnici ljudskih crijeva, doda 1%-tni prah đumbira ili češnjaka koji posjeduju antibakterijska svojstva (Garg *i sur*, 1980).

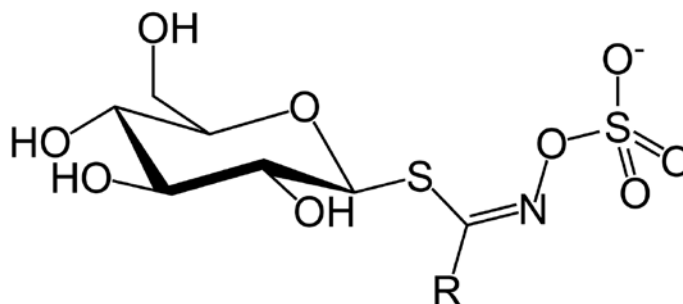
Pošto su mahunarke važna namirnica u ljudskoj prehrani, pogotovo u zemljama u razvoju, provjerene su razne metode kojima bi se mogla smanjiti koncentracija ugljikohidrata koji uzrokuju flatulenciju. Pri izradi brašna od sjemenka mahunarki skida se lupina, a ovisno o

kojoj se vrši radi i postupku skidanja, uklanja se između 14% i 20% rafinoze, stahioze i verbaskoze suhim postupkom, a kod nekih vrsta se mokrim postupkom može ukloniti i 76,4% stahioze, no pri proizvodnji proteinskih koncentrata iz takvog brašna dobiva se proizvod s mnogo koncentriranijim oligosaharidima ukoliko se ne provedu dodatni postupci uklanjanja (Naczki *i sur*, 1997). Močenjem i kuhanjem se također uklanja dio oligosaharida, a vrijeme potrebno za uklanjanje određene količine se može skratiti povećanjem temperature vode u kojoj se moče (Naczki *i sur*, 1997). Loša strana tog postupka je da se pritom uklanjaju i korisne tvari topljive u vodi, na primjer kalcij, magnezij, i vitamini (Naczki *i sur*, 1997). Enzim α -galaktozidaza se koristi pri proizvodnji saharoze iz šećerne repe koja sadrži mnogo rafinoze (Naczki *i sur*, 1997), a služi i za uklanjanje nepoželjnih oligosaharida iz sojinog mlijeka. Izlaganje sjemenki gama-zrakama smanjuje sadržaj stahioze i rafinoze za 50%, a potpuno uklanjanje se postiže naknadnim proklijavanjem sjemena (Rao and Vakil, 1983).

Iako su mahunarke vrlo vrijedna hrana za ljude, potrebno ih je prerađivati jer sadrže mnogo tvari koje su za ljude otrovne (lektini) ili uzrokuju nepoželjne pojave (flatulencija).

7. Glukozinolati

Glukozinolati (Slika 5) su skupina spojeva koji se redovito nalaze u biljkama iz porodice krstašica (*Brassicaceae*) u koju spadaju uljarice, npr uljana repica (Shahidi *i sur*, 1997), čija ulja se mogu koristiti za prehranu i kao biodizel.



Slika 5: Opća strukturna formula glukozinolata

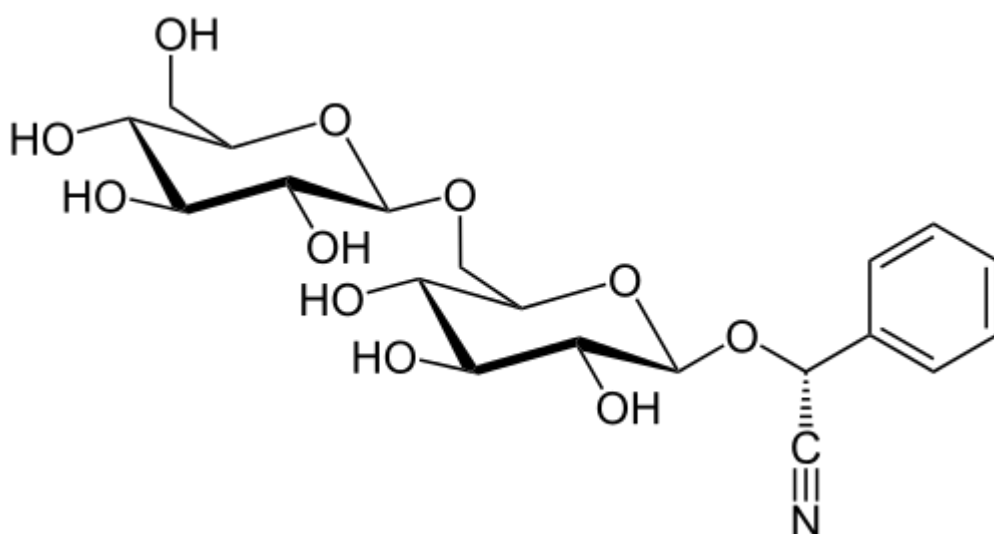
(<https://en.wikipedia.org/wiki/Glucosinolate#/media/File:Glucosinolate-skeletal.png>)

Smatraju se goitrogenima (tvari koje ometaju štitnjaču u primanju joda) što je vidljivo iz povećanja štitnjače na životinjama hranjenim sjemenkama koje sadrže glukozinolate (Shahidi *i sur*, 1997). Glukozinolati, koji sami po sebi nisu otrovni, razgrađuje enzim mirozinaza (tioglukozidaza, odnosno tioglukozidglukohidrolaza) prisutan u biljnim vakuolama posebnih idioblasta, a oslobađa se prilikom njihova oštećivanja. Pritom nastaju produkti koji su toksični: izotiocijanati, tiocijanati, nitrili i ostali (Shahidi *i sur*, 1997). Makar su otrovi, glukozinolati nisu potpuno nepoželjni u namirnicama jer su odgovorni za oštar okus senfa, hrena i rotkvice te daju karakterističnu aromu radiču, brokuli, kupusu i cvjetači. Izotiocijanati su odgovorni za okus vasabija (japanskog hrena) koji se mnogo koristi u japanskoj kuhinji (Shahidi *i sur*, 1997). U komercijalnoj proizvodnji ulja uljane repice toplinom se inaktivira mirozinaza, no to ne uklanja rizik od trovanja jer postoje bakterije u probavilu koje odvajaju glukozu i ostavljaju otrovni aglikon (Oginsky *i sur*, 1965). Neki glukozinolati imaju izravan povoljan učinak na organizam, indolili glukozinolati inhibiraju karcinogenezu induciranu policikličkim aromatskim ugljikovodicima (Loft *i sur*, 1992).

Glavni načini za uklanjanje glukozinolata iz uljane repice su ekstrakcija, mikroba degradacija, kemijska degradacija što uključuje i enzimsku razgradnju i genetičko poboljšavanje (Shahidi *i sur*, 1997). Pošto se od repice proizvodi stočna hrana važno je paziti da se kvalitete konačnog proizvoda ne smanji značajno zbog uklanjanja nepoželjnih tvari.

8. Cijanogeni glikozidi

Cijanogeneza tj. sposobnost živog tkiva za stvaranje cijanovodične kiseline je široko rasprostranjena među biljkama. U višim biljkama se cijanid ne nalazi u slobodnom obliku nego je vezan na veće molekule, uglavnom ugljikohdrate, i oslobađa se uslijed enzimske hidrolize prilikom oštećenja tkiva zbog „curenja“ enzima iz vakuol u kojoj se nalaze. Cijanogeni glikozidi (Slika 6) se nalaze u lišću, korijenu, sjemenkama i ostalim dijelovima (Shahidi i Wanasundara, 1997).



Slika 6: Amigdaline, cijanogeni glikozid nađen u gorkim bademima,

(https://en.wikipedia.org/wiki/Amygdalin#/media/File:Amygdalin_structure.svg)

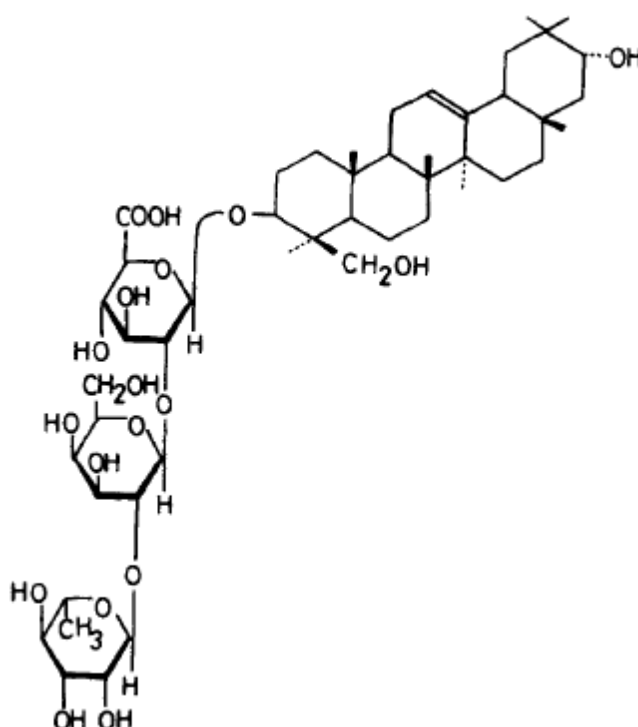
Osim očite obrambene funkcije (Shahidi i Wanasundara, 1997), postoje i dokazi da mogu služiti kao pričuva dušika koji može biti pretvoren u aminokiseline u slučaju velike potrebe na primjer pri klijanju (Selmar i sur, 1988). Pošto je cijanid jaki otrov za životinje i ljude jer se veže na enzime s metaloporfirinskim skupinama što uključuje i citokrom oksidazu (Shahidi i Wanasundara, 1997), važno je poznavati namirnice koje ga sadrže kako bi se odredile sigurne doze za konzumaciju i pronašli načini pripreme koji bi smanjili koncentraciju otrova. Oralna letalna doza za čovjeka iznosi između 0,5 i 3,5 mg/kg (Shahidi i Wanasundara, 1997). Neke od poznatijih namirnica koje sadrže cijanogene glikozide su gorki bademi, marelice (sjemenka), kasava, lan, lima grah, breskva (sjemenka), sorgum i divlja trešnja (Shahidi i Wanasundara, 1997). Gorki bademi sadrže do 5% amigdalina što je oko 1mg cijanida po

sjemenci 10-15 sjemenki predstavlja letalnu dozu za dijete. Slatki bademi imaju mnogo manje cijanida, ali 2% slatkih badema ima količinu cijanida usporedivu s onom gorkih badema. Kako spadaju u istu porodicu, marelice i breskve također skladište cijanogene glikozide u sjemenkama, no ta količina je manja od one u gorkim bademima. Neke sjemenke marelica mogu biti dovoljno gorke da izazovu simptome trovanja cijanidom u slučaju prevelike konzumacije (Ballhorn, 2011). Lan sadrži mnogo minerala i vrijednih masnih kiselina (α -linolenska kiselina) no sadrži i značajnu količinu cijanogenih glikozida. Takvih glikozida uglavnom nema u obrađenom lanenom ulju (Ballhorn, 2011). Lima grah je još jedan primjer namirnice bogate nutrijentima koja je istovremeno bogata i otrovima. Sadržaj cijanida je od 2,1 do 3,1 mg po sjemenci, no modreni varijeteti sadrže znatno manje (Ballhorn, 2011).

Glavni način smanjivanja količine cijanogenih glikozida u biljkama koje se redovito koriste za hranu jest stvaranje kultivara koji proizvode manje takvih spojeva. Pri unosu subletalnih doza cijanida, događa se pretvorba u tiocijanat pomoću mitohondrijskog enzima rodanaze, a donor sumpora su aminokiseline cistein ili metionin (Ballhorn, 2011). Moguće je i kronično trovanje cijanidom koje za posljedice ima pojavu neuroloških bolesti, reproduktivne probleme i povećani broj neonatalnih smrti (Ballhorn, 2011).

9. Saponini

Saponini su steroli ili triterpenski glikozidi (Slika 7), uglavnom biljnog porijekla. Aglikonski dio se naziva sapogenin. Vrste koje se koriste u ljudskoj prehrani uključuju soju, slanutak kikiriki i špinat (Oakenfull, 1981). Pošto su saponini površinski aktivne molekule, tvore stabilne pjene i imaju emulgirajuća svojstva, a imaju i jaku hemolitičku aktivnost (Oakenfull, 1981)



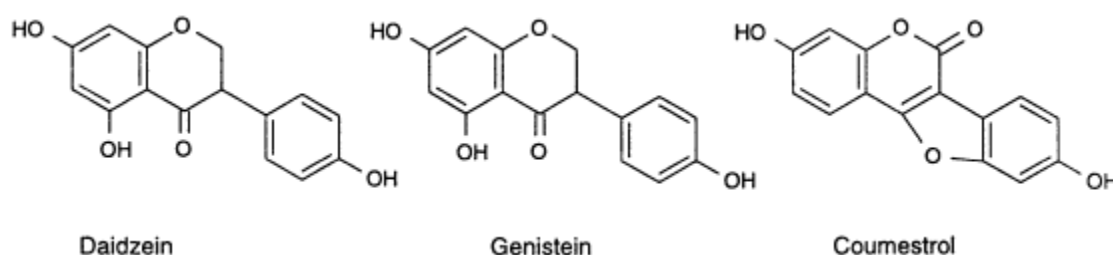
Slika 7: Sojasaponin I, primjer saponina sa sterolnim aglikonom (Oakenfull, 1981)

Primijećeno je da je konzumacija saponina povezana sa smanjenjem koncentracije kolesterola u plazmi (Oakenfull, 1981). Predloženi mehanizam tog djelovanja jest da saponini potiču vezanje žučnih soli na dijetalna vlakna što uzrokuje gubitak tih soli iz organizma, a zbog toga se dodatne količine kolesterola iz jetre moraju pretvoriti u žučne soli kako bi se nadoknadio gubitak (Burkitt i Trowell, 1975). Oralna letalna doza saponina varira od 25 do 3000 mg/kg. Saponini uglavnom ne izalze iz probavnog sustava, no u slučaju jačeg trovanja moguća je pojava lezija u probavilu, njihov ulazak u krvotok te tada nastaje najveća šteta. Posljedice su hemoliza eritrocita, respiratorna klijenut, konvulzije i koma (Buckley, 1989). Iritacija probavnog sustava drugim uzrocima može povećati osjetljivost na trovanje saponinima, a

dugotrajno konzumiranje subletalnih doza dovodi do oštećenja probavila te na kraju saponini ulaze u krvotok . Otrovnost saponina ovisi o kojem konkretnom saponinu je riječ (Oakenfull, 1981).

10. Fitoestrogeni

Fitoestrogeni su biljne tvari koje oponašaju djelovanje estrogena u organizmu sisavca. Dijelev se na dvije glavne klase, izoflavone i kumestane (Slika 8) (Rickard i Thompson, 1997).



Slika 8: Tipične strukture izoflavona i kumestana (Rickard and Thompson, 1997)

Fitoestrogeni su široko rasprostranjeni među biljkama. Od poznatih, soja sadrži najveće količine fitoestrogena (Adrian *i sur*, 1995). U organizmu sisavaca djeluju tako da imaju estrogene ili antiestrogene (u slučaju visoke koncentracije potentnijih estrogena kompetiraju za receptore, a izazivaju slabiji učinak) učinke nakon što se vežu na estrogenski receptor (Rickard i Thompson, 1997). Sposobnost vezanja na estrogenske receptore proizlazi iz pozicije najudaljenijih hidroksilnih skupina iako nemaju strukturu steroida (Jordan *i sur*, 1958). Najjači fitoestrogen je kumestrol čija aktivnost je jedna tisućina aktivnosti estradiola dok izoflavoni imaju aktivnost jedne desetstisućine estradiola (Rickard i Thompson, 1997). Prehrambena suplementacija s bogatim izvorima fitoestrogena je dovela povećanja njihove koncentracije u plazmi do razine 10000 puta veće nego normalne koncentracije estradiola (Morton *i sur*, 1994). Za razliku od studija na životinjama (Rickard and Thompson, 1997b) nisu pronađeni epidemiološki dokazi abnormalnosti u reproduktivnom traktu ljudi koji konzumiraju mnogo fitoestrogena. U jednoj kratkotrajnoj studiji je pokazano da su žene koje su konzumirale 60g sojinog proteina dnevno imale dulju lutealnu ili folikularnu fazu menstrualnog ciklusa bez značajnog ukupnog povećanja duljine ciklusa, a produljenje trajanja tih faza ciklusa je povezano sa smanjenjem rizika od raka dojke (Rickard i Thompson, 1997). U slučaju kada su davani produkti soje u kojem su izoflavoni bili uklonjeni nije bilo promjena duljina faza menstrualnog ciklusa (Cassidy *i sur*, 1994). Iako postoji povezanost između endokrinih disruptora koji djeluju kao estrogen i pogoršanja parametara sperme u muškaraca, nema dokaza da fitoestrogeni imaju negativno djelovanje (Sirotkin, 2014).

11 Literatura

- Adrian A, Laurie J, Carmencita M (1995). Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. *Proc Soc Exp Biol Med* **208**: 18–26.
- Alonso G (1990). Glycoalkaloid change during the domestication of the potato , Solanum section Petota. *Euphytica* **50**: 203–210.
- Ballhorn DJ (2011). *Cyanogenic Glycosides in Nuts and Seeds. Nuts Seeds Heal Dis Prev* doi:10.1016/B978-0-12-375688-6.10014-3.
- Bowman DE (1945). Amylase inhibitor of navy beans. *Science (80-)* **102**: 358–359.
- Buckley G (Royal College of General Practitioners: 1989). *MARTINDALE: THE EXTRA PHARMACOPOEIA. J R Coll Gen Pract* **39**: .
- Burkitt DP, Trowell HC (Academic Press: London, 1975). *Refined carbohydrate foods and disease*. .
- Cassidy A, Bingham S, Setchell KDE (1994). Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. *Am J Clin Nutr* **60**: 333–340.
- Chrzaszcz, T.; Janicki J (1934). Inactivation of animal amylase by plant paralyzers and the presence of inactivating substances in solutions of animal amylase. *Biochem J* **28**: 296–304.
- Cummings JHG (1981). Short chain fatty acids in the human colon Cummings,. *Gut* **22**: 763–779.
- Gyrg SK, Banereja AC, Verma J, Abraham MJ (1980). Effect of Various Treatments of Pulses on in Vitro Gas Production By Selected Intestinal Clostridia. *J Food Sci* **45**: 1601–1602.
- Harvey, M. H.; McMillan, M.; Morgan, M. R. A.; Chan HWS (1985). Solanidine is present in serums of healthy individuals and in amounts dependent on their dietary potato consumption. *Hum Toxicol (1985)*, **4**: 187–194.
- Hellenäs KE, Nyman a, Slanina P, Löf L, Gabrielsson J (1992). Determination of potato glycoalkaloids and their aglycone in blood serum by high-performance liquid chromatography. Application to pharmacokinetic studies in humans. *J Chromatogr* **573**: 69–78.
- Hix DK, Klopfenstein CF, Walker CE (1997). Physical and Chemical Attributes and Consumer Acceptance of Sugar-Snap Cookies Containing Naturally Occurring Antioxidants1. *Cereal Chem* **74**: 281–283.
- Honavar, P. M.; Shih, Cheng-Ven; Liener IE (1962). Inhibition of the growth of rats by purified hemagglutinin fractions isolated from Phaseolus vulgaris. *J Nutr* **77**: 109–114.
- Jadhav, S. J.; Salunkhe DK (1975). Formation and control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of Solanum tuberosum and evaluation of glycoalkaloid toxicity. *Adv Food Res* **21**: 307–354.

- Jadhav SJ, Lutz SE, Mazza G, Salunkhe DK (1997). Potato Glycoalkaloids: Chemical, Analytical, and Biochemical Perspectives. 94–114doi:10.1021/bk-1997-0662.ch006.
- Jayne-Williams DJ (1973). Influence of dietary jack beans (*Canavalia ensiformis*) and of concanavalin A on the growth of conventional and gnotobiotic japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Nature, New Biol* **243**: 150–151.
- Jordan, V. Craig; Mittal, Shubhra; Gosden, Barbara; Koch, Rick; Lieberman ME (1958). Structure-activity relationships of estrogens. *Environ Health Perspect* **61**: 97–110.
- Fredlund, K.; Asp, NG; Larsson, M.; Marklinder, I.; Sandberg, AS (1997). Phytate reduction in whole grains of wheat, rye, barley and oats during hydrothermal treatment. *J Cereal Sci* **25**: 83–91.
- Kivistö B, Andersson H, Cederblad G, Sandberg AS, Sandström B (1986). Extrusion cooking of a high-fibre cereal product. 2. Effects on apparent absorption of zinc, iron, calcium, magnesium and phosphorus in humans. *Br J Nutr* **55**: 255–60.
- Kunitz M (1945). Crystallization of a trypsin inhibitor from soybean Kunitz,. *Science (80-)* **101**: 668–669.
- Laskowski, Michael, Jr.; Kato I (1980). Protein inhibitors of proteinases. *Annu Rev Biochem* **49**: 593–626.
- Lee BJ, Hendricks DG (1995). Phytic Acid Protective Effect Against Beef Round Muscle Lipid Peroxidation. *J Food Sci* **60**: 241–244.
- Liener, IE.; Hill EG (1953). The effect of heat treatment on the nutritive value and hemagglutinating activity of soybean oil meal. *J Nutr* **49**: 609–620.
- Liener IE (1997). Plant Lectins: Properties, Nutritional Significance, and Function. *Antinutr Phytochem Food* 31–43doi:10.1021/bk-1997-0662.ch003.
- Loft, S.; Otte, J.; Poulsen, H. E.; Soerensen H (1992). Influence of intact and myrosinase-treated indolyl glucosinolates on the metabolism in vivo of metronidazole and antipyrine in the rat. *Food Chem Toxicol* **30**: 927–935.
- Maga JA (1980). Potato glycoalkaloids. *Crit Rev Food Sci Nutr* **12**: 371–405.
- McClure FJ (1963). Further Studies on the Cariostatic Effect of Organic and Inorganic Phosphates. *J Dent Res* **42**: 693–699.
- Miller, Terry L.; Wolin MJ (1979). Fermentations by saccharolytic intestinal bacteria. *Am J Clin Nutr* **32**: 164–172.
- Morris, S. C.; Lee TH, Food (1984). The toxicity and teratogenicity of Solanaceae glycoalkaloids, particularly. *Food Technol Aust* **36**: 118–124.
- Morton, M. S.; Wilcox, G.; Wahlqvist, M. L.; Griffiths K (1994). Determination of lignans and isoflavonoids in human female plasma following dietary supplementation. *J Endocrinol* **142**: 251–259.
- Naczek M, Amarowicz R, Shahidi F (1997). α -Galactosides of Sucrose in Foods: Composition, Flatulence-Causing Effects, and Removal. *Antinutr Phytochem Food* 127–151doi:10.1021/bk-1997-0662.ch008.

- Oakenfull D (1981). SAPONINS IN FOOD - - A REVIEW. *Food Chem* **6**: 19–40.
- Oatway L, Vasanthan T, Helm JH, Oatway L, Vasanthan T, Helm JH (2001). PHYTIC ACID. *Food Rev Int* **17**: 419–431.
- Oginsky EL, Stein AE, Greer MA (1965). Myrosinase Activity in Bacteria as Demonstrated by the Conversion of Progoitrin to Goitrin. *Exp Biol Med* **119**: 360–364.
- Plhak LC, Sporns P (1997). Biological Activities of Potato Glycoalkaloids. *Antinutr Phytochem Food* 115–126doi:10.1021/bk-1997-0662.ch007.
- Price KJ (1988). Flatulence--causes, relation to diet and remedies. *Nahrung* **32**: 609–626.
- Rao VS, Vakiluk (1983). Effects of Gamma-Irradiation on Flatulence-Causing Oligosaccharides in Green Gram (*Phaseolus Areus*). *J Food Sci* **48**: 1791–1795.
- Reddy NR, Sathe SK SD (1982). Phytates in legumes and cereals. *Adv Food Res* **28**: 1–92.
- Richard L (1992). Toxicological burdens and the shifting burden of toxicology Hall,. *Food Technol* **46**: 109–112.
- Richardson M (1991). Seed storage proteins: the enzyme inhibitors. *Methods Plant Biochem* **5**: 259–305.
- Rickard SE, Thompson LU (1997a). Interactions and Biological Effects of Phytic Acid. 294–312doi:10.1021/bk-1997-0662.ch017.
- Rickard SE, Thompson LU (1997b). Phytoestrogens and Lignans: Effects on Reproduction and Chronic Disease. *Antinutr Phytochem Food* 273–293doi:10.1021/bk-1997-0662.ch016.
- Sandberg AS (1991). The effect of food processing on phytate hydrolysis and availability of iron and zinc. *Adv Exp Med Biol* **289**: 499–508.
- Selmar, Dirk; Lieberei, Reinhard; Biehl B (1988). Mobilization and utilization of cyanogenic glycosides. The linustatin pathway. *Plant Physiol* **86**: 711–716.
- Shahidi F (1997). Beneficial Health Effects and Drawbacks of Antinutrients and Phytochemicals in Foods. *Antinutr Phytochem Food* 1–9doi:10.1021/bk-1997-0662.ch001.
- Shahidi F, Daun JK, DeClercq DR (1997). Glucosinolates in Brassica Oilseeds: Processing Effects and Extraction. *Antinutr Phytochem Food* 152–170doi:10.1021/bk-1997-0662.ch009.
- Shahidi F, Wanasundara PKJPD (1997). Cyanogenic Glycosides of Flaxseeds. *Antinutr Phytochem Food* 171–185doi:10.1021/bk-1997-0662.ch010.
- Shamsuddin AM (1995). Inositol phosphates have novel anticancer function. *J Nutr* **125**: 725S–732S.
- Sirotkin A V (2014). Title : Phytoestrogens and their effects. 1–7doi:10.1016/j.ejphar.2014.07.057.
- Slanina P (1990). Solanine (glycoalkaloids) in potatoes: toxicological evaluation. *Food Chem*

Toxicol **28**: 759–761.

Türk M, Carlsson N-G, Sandberg A-S (1996). Reduction in the Levels of Phytate During Wholemeal Bread Making; Effect of Yeast and Wheat Phytases. *J Cereal Sci* **23**: 257–264.

Whitaker JR (1997). Protease and α -Amylase Inhibitors of Higher Plants. *Antinutr Phytochem Food* 10–30doi:10.1021/bk-1997-0662.ch002.

Whitaker JR, Sgarbieri VC (1981). Purification and Composition of the Trypsin-Chymotrypsin Inhibitors of Phaseolus Vulgaris L. Var Rosinha G2. *J Food Biochem* **5**: 197–213.

Wilcox, Edward R.; Whitaker JR (1984). Structural features of red kidney bean α -amylase inhibitor important in binding with α -amylase. *J Food Biochem* **8**: 189–213.

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.16735966.html>

<http://www.wikipedia.en>

12. Sažetak

Kultivirane biljke čine osnovu moderne ljudske civilizacije jer se iskorištavaju kao hrana, građivni materijal ili izvor raznih korisnih kemijskih spojeva. Tijekom domestifikacije su izvorne vrste značajno promijenjene. Kod onih koje se koriste za hranu, odabir je bio u smjeru povećanja prinosa, olakšavanja sakupljanja ili poboljšanja okusa i probavljivosti. Poboljšanje u okusu i probavljivosti je u mnogo slučajeva bilo posljedica uklanjanja neke tvari otrovnog ili antinutrijentskog djelovanja. Također su se razvili razni načini pripreme koji su uklanjali ili neutralizirali nepoželjne tvari iz biljaka. Antinutrijetni se nalaze u svim kulturama koje se u svijetu svakodnevno konzumiraju. U pšenici se nalazi fitinska kiselina koja veže katione metala i ometa njihovu apsorpciju, grah sadrži lektine koji mogu izazvati hemolizu, soja stvara inhibitore proteaza čime onemogućava probavu proteina, krumpir ima glikoalkaloide koji su otrovni za ljude, a krstašice stvaraju glukozinolate koji štetno djeluju na štitnjaču. Iako se te tvari općenito smatraju nepoželjnim, imaju i neka poželjna svojstva, bilo da su odgovorne za karakterističan okus i aromu, štite zube, usporavaju rast šećera u krvi nakon obroka i sl. Kada se govori o otrovima važno je prisjetiti se da doza čini otrov.

13. Summary

Cultivated plants are the foundations of the modern human civilization because they are used as food, building material and source of great number of useful chemical compounds. Original species have been greatly transformed during domestication. Those used for food, selected traits were amount of yield, ease of harvest or taste and digestibility improvement. Better taste and digestibility were, in most cases, the result of removal of some toxic compound or antinutrient. Also, lots of food preparation techniques were developed to displace or neutralize unwanted chemicals from plants. Antinutrients are found in every plant species eaten every day around the world. Wheat contains phytic acid which binds metal cations and hinders their absorption, beans has lectins which are able to cause haemolysis, soy synthesises protease inhibitors to impede protein digestion, potato has glycoalkaloids which are poisonous to humans and plants from *Brassicaceae* family contain glucosinolates which have detrimental effect on thyroid gland. Even though those chemicals are generally recognised as unwanted, they also have desirable properties. They are responsible for characteristic taste and aroma of some foods, they can protect teeth or blunt blood glucose spikes after meal. When discussing poisons, it is useful to have in mind that the dose makes the poison.